ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1970 N° 1

DOSAGE DE L'EAU TOTALE CHEZ LE LAPIN par la méthode à l'oxyde de tritium

---

THESE

pour le doctorat vétérinaire

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Mai 1970
devant la
Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

KRITTLE Jean-Patrice,
Né le : 5 janvier 1945 à Niort (79)

JURY :

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse.

Assesseurs :

M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

M. LABIE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1970 N° 1

DOSAGE DE L'EAU TOTALE CHEZ LE LAPIN par la méthode à l'oxyde de tritium

---

THESE

pour le doctorat vétérinaire

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Mai 1970

devant la

Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

KRITTLE Jean-Patrice,

Né le : 5 janvier 1945 à Niort (79)

JURY :

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse.

Assesseurs :

M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

M. LABIE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. FLORIO.
Directeurs Honoraires : MM. PONS - DARRASPEN.

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie :
— Professeur titulaire ..... **M. Godfrain**
— Maître-Assistant ..... **Mme Burgat-Sacaze**
Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales :
— Professeur titulaire ..... **M. Rico**
— Maître-Assistant ..... **M. Lorgue**
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des animaux domestiques :
— Professeur titulaire ..... **M. Pavaux**
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie - Thérapeutique :
— Professeur titulaire ..... **M. Ruckebusch**
— Maître-Assistant ..... **M. Fargeas**
Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique :
— Professeur titulaire ..... **M. Van Haverbeke**
— Maître de Conférences, non
Chef de Service ..... **M. Cabanié**
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale :
— Professeur titulaire ..... **M. Labie**
— Maître-Assistant ..... **M. Eeckhoutte**
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale.

Chaire de Parasitologie et Maladies parasitaires :
— Professeur titulaire ..... **M. Brizard**
— Maître-Assistant ..... **M. Dorchies**
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Sémiologie et Pathologie médicale des Equidés et Carnivores :
— Professeur titulaire ..... **M. Florio**
— Maître de Conférences non
Chef de Service, Professeur
sans chaire ..... **M. Lescure**
— Maître-Assistant ..... **M. Guelfi**
Sémiologie et Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire et Déontologie clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des animaux de basse-cour :
— Professeur titulaire ..... **M. Tournut**
— Maître de Conférences, non
Chef de Service ..... **M. Espinasse.**
Sémiologie et Pathologie Médicale du bétail et des animaux de basse-cour - Clinique ambulatoire.

Chaire de Pathologie Chirurgicale :
— Professeur titulaire ..... **N.**
— Maître-Assistant ..... **M. Cazieux**
Propédeutique et Sémiologie chirurgicale
Technique chirurgicale - Pathologie chirurgicale
Podologie - Clinique.

Chaire de Pathologie de la Reproduction :
— Professeur titulaire ..... **M. Berthelon**
— Maître de Conférences, non
Chef de Service, Professeur
sans chaire ..... **M. Royal**
Sémiologie et propédeutique - Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique.

Chaire de Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation sanitaire :
— Professeur titulaire ..... **M. Saurat.**
— Maître-Assistant ..... **M. Chantal**
Maladies contagieuses - Zoonoses
Législation sanitaire

Chaire de Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie :
— Professeur titulaire ..... **M. Lautié**
Microbiologie - Immunologie - Pathologie générale.

Chaire de Zootechnie et d'Economie Rurale :
— Professeur titulaire ..... **M. Queinnec**
— Maître-Assistant ..... **M. Darre**
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale
Zootechnie - Elevage - Economie générale et des productions animales.

Chaire d'Alimentation :
— Professeur titulaire ..... **M. Faliu**
— Maître-Assistant Agrégé .... **M. Griess**
Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGÉS D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies Infectieuses	**MM. Monnier**
Aspect médical des Zoonoses	**Armengaud**
Energétique et Métabolismes	**Labouche**
Initiation à l'Informatique biomédicale	**Fernet**
Agronomie	**Brisebois**
Les Marchés Internationaux de l'élevage	**Blanc**
Organisation de l'Elevage bovin	**Sableyrolles**
Responsabilité Civile et Pénale du Vétérinaire, Inspecteur des Denrées Alimentaires	**Linon**
Rôle Economique des Collectivités locales	**Eeckoutte**
Rentabilité de l'élevage	**Rouch**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

UNIV. LEIDEN BIBL.

A MES PARENTS

Faible témoignage de ma reconnaissance.

A MA FEMME

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR DOUSTE-BLAZY
de la Faculté de Médecine de Toulouse

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de nos hommages très respectueux.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR RICO

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse. Qu'il nous soit permis de lui exprimer toute notre gratitude pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son service et pour la bienveillance dont il a toujours fait preuve à notre égard.

MONSIEUR LE PROFESSEUR LABIE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance pour avoir accepté de faire partie de notre jury de thèse.

A MONSIEUR GUY LORGUE
Maître-Assistant

En remerciement pour l'aide qu'il nous a apportée dans la conduite et la rédaction de cette thèse.

A TOUS NOS MAITRES

DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE

DE TOULOUSE

PLAN

INTRODUCTION.
HISTORIQUE.
L'EAU TOTALE.
I. Définition.
II. Les secteurs hydriques.
1. *Secteur extracellulaire.*
2. *Secteur intracellulaire.*
III. Les états de l'eau dans l'organisme.
1. *Eau libre.*
2. *Eau liée.*
IV. Les Facteurs de Variation.
1. *Espèce.*
2. *Age.*
3. *Teneur en graisse de l'organisme.*
MESURE DE L'EAU TOTALE.
I. Principe général de mesure des grands secteurs hydriques de l'organisme et de l'eau totale.
1. *Définition.*
2. *Propriétés indispensables pour le choix d'une substance.*
3. *Mode de calcul d'un espace de dilution.*
a) Méthode de prélèvement unique.
b) Méthode d'extrapolation.
c) Méthode de perfusion continue.
4. *Expression des résultats.*
II. Principales méthodes utilisées pour la mesure de l'eau totale.
1. *Sulfanilamide, urée, thiourée.*
2. *Antipyrine.*
a) Raison du choix.
b) Méthode de dosage de l'antipyrine.
3. *Oxyde de Deutérium.*
a) Technique.
b) Dosage par densimétrie.
4. *Oxyde de Tritium.*
a) Propriétés justifiant son emploi dans la mesure de l'eau totale.
b) Principe de la mesure.
METHODE UTILISANT L'OXYDE DE TRITIUM.
MATERIEL ET METHODE.

I. L'eau tritiée.

II. Les animaux et leur préparation.
1. *Raisons du choix.*
2. *Préparation.*

III. Protocole expérimental.
1. *Technique de ponction intracardiaque.*
2. *Le Blanc.*
3. *Injection.*
4. *Prélèvements.*
5. *Préparation des échantillons de sérum.*
a) Utilisation directe.
b) Défécation à l'acide trichloracétique.
c) Distillation sous vide.
— Principe.
— Matériel.
— Technique.
6. *Préparation des solutions d'étalonnage.*
a) Sérum déféqué.
b) Sérum normal ou distillé.

IV. Mesure de la radioactivité du sérum.
1. *Matériel, choix d'une solution scintillante.*
2. *Technique.*

V. Détermination de la radioactivité injectée et de l'eau totale.
1. *Radioactivité injectée.*
a) Sérum déféqué.
b) Sérum normal ou distillé.
2. *Eau totale.*

RESULTATS.

I. Demi-vie biologique du tritium chez le lapin.

II. Sérums déféqués par l'acide trichloracétique.

III. Sérums directement comptés.

IV. Sérums distillés.
1. *Méthode du prélèvement unique.*
2. *Méthode par extrapolation.*

V. Méthode de référence par dessiccation.

DISCUSSION.

CONCLUSION.

BIBLIOGRAPHIE.

INTRODUCTION

« L'eau est la condition première indispensable à toute manifestation vitale comme à toute manifestation des phénomènes physiques et chimiques », écrivait Claude BERNARD [7] au milieu du siècle dernier. Cette affirmation bien souvent refaite chaque fois qu'il s'agit d'eau en Biologie, nous est apparue de plus en plus vraie au fur et à mesure que progressait notre étude sur l'eau totale.

Sa place dans les réactions biochimiques et dans la régulation thermique, ses propriétés dissolvantes et ionisantes, sa capacité de protection des grosses molécules, son rôle en tant que véhicule dans l'élimination des déchets, et de théâtre d'échange au sein des tissus circulants, font de l'eau le moteur de l'économie de l'organisme.

Les déséquilibres hydriques occupent une place importante en pathologie et en thérapeutique, ce qui permet à HAMBURGER et MATHÉ d'affirmer que « tout malade grave (quelle que soit la nature de sa maladie) soulève le problème des troubles de l'équilibre hydrique ».

Aussi, intéressé par le problème de l'eau en pathologie, plus particulièrement chez le porc et les ruminants, et devant l'imprécision des résultats, et des méthodes, il nous est apparu indispensable d'essayer de mettre au point une technique permettant de mesurer l'eau totale chez ces espèces.

Afin de simplifier le problème nous avons choisi un animal d'expérience de petite taille, monogastrique, le lapin dont nous avons voulu doser l'eau totale en utilisant l'oxyde de tritium. Voici, brièvement résumé, ce que nous nous sommes proposés de faire.

HISTORIQUE.

La notion de milieu intérieur est mise en évidence pour la première fois par Claude Bernard [4, 5, 6, 7] en 1855 qui, loin de négliger l'importance de l'eau précise que « les éléments histologiques plongés dans le milieu intérieur... vivent baignés par les liquides organiques qui renferment de très grandes quantités d'eau ».

Il faut attendre 1934 pour que Fenn [27], Crandall et Andfrson [17] aux Etats-Unis et plus tard Cachera et Barbier [12, 13] en France apportent le moyen de mesurer grossièrement in vivo le volume des liquides extracellulaires et du secteur total, et permettent de dégager la notion de grands secteurs hydriques.

A la même époque von Hevesy et Hofer [71] utilisent l'oxyde de deutérium pour mesurer l'eau totale chez l'homme.

Depuis, de nombreuses substances sont utilisées avec plus ou moins de succès.

En 1940, Painter [53] préconise l'emploi de la Sulfanilamide et de l'Urée.

En 1944, Danowski [18] utilise la Thiourée.

Dès 1947, Pace, Kline, Schachman et Harfenist [52] emploient l'oxyde de Tritium.

En 1949, Axelrod, Sobermann et Lévy [2] se servent de l'Antipyrine.

Aujourd'hui, si la subtilité des phénomènes de régulation hydrique reste encore obscure, le volume de l'eau totale n'en est pas moins connu chez l'homme et chez quelques espèces animales.

L'EAU TOTALE

I. — DEFINITION

C'est la quantité d'eau obtenue par dessiccation à poids constant d'un organisme.

II. — LES SECTEURS HYDRIQUES

Depuis Claude BERNARD qui entrevit la notion de milieu intérieur, on met en opposition le liquide extracellulaire qui fait communiquer les cellules avec l'extérieur et le liquide intracellulaire où s'accomplissent les processus métaboliques.

Ces deux secteurs se distinguent par leur composition électrolytique différente.

Le liquide extracellulaire comprend essentiellement les ions Na^+, Cl^-, HCO_3^-, alors que le liquide intracellulaire contient les ions Ca^{++}, K^+, Mg^{++}, PO_4H^{--}, et SO_4^{--}.

1. *Le Secteur extracellulaire.*

Ce secteur comporte le plasma, les liquides interstitiels et la lymphe.

— L'eau plasmatique ou eau circulante représente environ 5 % du poids du corps.

— L'eau interstitielle comprenant l'eau des interstices cellulaires, l'eau de la lymphe (forme circulante de l'eau interstitielle) et l'eau de liquides divers (liquide céphalorachidien, milieux de l'œil et de l'oreille interne) représente 15 % du poids du corps.

Les liquides extracellulaires possèdent d'importants caractères communs de structure physico-chimique. Seule la teneur en protéines différencie le plasma et les liquides interstitiels. Mais cette différence ne diminue en rien l'individualité de ce secteur, celle-ci apparaît encore plus grande en étudiant la structure du secteur cellulaire.

2. *Le Secteur intracellulaire.*

La structure électrolytique de ce secteur est plus délicate à préciser car il n'est pas certain qu'elle soit la même pour toutes les cellules de l'organisme. De plus, il est difficile lors de l'analyse chimique d'un tissu, de faire la part du liquide interstitiel et celle du liquide cellulaire.

Quoi qu'il en soit, les électrolytes dominants sont le potassium, le magnésium, les sulfates, les phosphates. On note en revanche une faible teneur en sodium et en chlore. Les différences de composition suffisent à démontrer l'existence d'une barrière. Il est pratique de se représenter ces secteurs séparés par une « membrane » virtuelle interdisant le passage du sodium, du potassium et du chlore, et permettant celui de l'eau. Un tel système est favorable à l'intervention de phénomènes osmotiques mais aussi aux passages lipidique et protidique.

III. — LES ETATS DE L'EAU DANS L'ORGANISME

Les différences de propriétés dans l'organisme nous obligent à considérer deux formes d'eau : l'eau libre et l'eau liée.

1. *L'eau libre.*

C'est la majeure partie de l'eau cellulaire. Cette eau est mobilisable par le jeu des forces osmotiques et peut être totalement utilisée pour dissoudre les cristalloïdes. Toutes ses propriétés sont celles de l'eau pure. On la désigne souvent sous les différents noms : d'eau libre ou eau solvante ou eau osmotiquement transférable.

2. *L'eau liée.*

Le terme d'eau liée désigne une partie de l'eau totale qui ne présente pas certaines propriétés de l'eau pure.

Il existerait donc dans les systèmes colloïdaux et biologiques une certaine quantité d'eau qui :

a) résiste anormalement à la déshydratation,

b) ne se congèle pas aux températures de — 20° C et en-dessous,

c) n'a pas ses propriétés solvantes habituelles vis-à-vis des cristalloïdes,

d) n'obéit pas aux forces osmotiques dans les échanges entre les cellules et le milieu dans lequel elles sont en suspension.

A chacune de ces propriétés correspond un terme tel que : eau fixée, eau non congelable, eau non solvante, eau non osmotiquement transférable. Ce qui amène Bénezech [3] à ne pas parler d'une mais de plusieurs « eau liée », chacune étant définie par l'absence d'une des propriétés précitées.

Le terme d'eau liée convient donc pour désigner cette fraction de l'eau totale sans préjuger de la nature des liens qui relient ces molécules d'eau aux constituants cellulaires.

Aussi sera-t-il intéressant d'essayer brièvement de définir la nature de ces liens. La molécule d'eau constitue des dipôles ou systèmes de deux charges ponctiformes $+e$ et $-e$ séparées par une distance d. L'eau a une structure dipolaire.

Des mesures effectuées aux rayons X ont montré que cette molécule possède une forme angulaire, l'angle étant d'environ 105°.

La notion de dipôle permet d'interpréter le rôle de l'eau caractérisé par :

— la possibilité « d'association » entre les molécules.
— la possibilité d'union avec d'autres molécules polaires.
— la possibilité d'entraîner, par attraction électrostatique de chaque extrémité du dipôle, la dissociation des molécules polaires.

— la possibilité de créer des dipôles induits à partir de molécules non polaires.

Cette structure dipolaire permet aux molécules d'eau d'entourer les granules colloïdaux dits hydrophiles (en subissant les influences électriques) d'une sorte d'enveloppe aqueuse au sein de laquelle les dipôles d'eau sont de plus en plus lâchement retenus de telle sorte que plus on s'éloigne du colloïde plus l'orientation des dipôles est irrégulière. C'est le cas des protéines, par exemple.

On admet que les deux premières couches orientées, les plus solidement retenues, correspondent à l'eau liée, alors que les plus périphériques correspondent à l'eau d'hydratation. Ceci sans que l'on puisse affirmer qu'il y ait une frontière définie entre ces couches.

Ainsi l'eau libre ne représente pas l'eau totale de l'organisme, mais Moore [49] et Pace, Kline, Schachman, et Harfenist [52] définissent la quantité d'eau liée (5 à 7 % de l'eau totale) comme négligeable par rapport au volume de l'eau libre.

Aussi la méthode que nous utiliserons pour mesurer le volume de l'eau reste-t-elle pleinement valable.

IV. — LES FACTEURS DE VARIATION

Sous ses différentes formes l'eau totale atteint un volume qui varie entre 58 et 75 % du poids du corps. Ce volume hydrique n'est pas le même d'une espèce à l'autre et varie pendant la vie d'un même individu

1. *L'espèce.*

La teneur en eau d'un organisme semble être d'autant moins grande que celui-ci est plus évolué.

Méduse	: 99 % du poids du corps.
Moule	: 84 %
Invertébrés	: 78 %
Poissons	: 76 %
Souris	: 71 %
Bœuf	: 65 %
Homme	: 58 à 66 %

2. *L'âge.*

La teneur en eau diminue au fur et à mesure de la mise en place des tissus d'adulte. Ainsi chez l'homme :

— fœtus de 3 mois : 94 % du poids du corps.
— fœtus de 7 mois : 86 %
— nouveau-né : 69 %
— homme adulte : 63 %

3. *La teneur en graisse.*

L'âge n'explique pas seul la variation de la teneur en eau d'un organisme. Il apparaît que la quantité de graisse est le facteur essentiel de variation.

Soberman, Brodie, Lévy, Axelrod, Hollander, et Steele [64] montrèrent qu'eau totale et graisse du corps sont inversement proportionnelles.

Steele, Berger, Dunning et Brodie [65] constatèrent que le volume de l'eau totale était relativement moins important chez la femme (en moyenne 45 %) que chez l'homme (en moyenne 53 %). Cette différence est due au fait que l'homme est moins gras que la femme.

Ceci est confirmé par les travaux de Pace et Rathbun [51] qui démontrèrent que le volume d'eau par rapport au poids du corps dégraissé est égal à 73 %.

C'est la raison pour laquelle il est apparu nécessaire de définir comme index de référence non le poids du corps mais un poids théorique calculé à partir des mensurations.

MESURE DE L'EAU TOTALE

I. — PRINCIPE GENERAL DE MESURE DES GRANDS SECTEURS HYDRIQUES ET DE L'EAU TOTALE.

1. *Définition.*

L'espace de diffusion d'une substance introduite dans l'organisme est le volume hydrique dans lequel cette substance s'est répandue de façon homogène lorsque sa diffusion est complète.

2. *Propriétés indispensables pour le choix d'une substance.*

— Elle doit diffuser rapidement et uniformément dans les secteurs hydriques.

— Elle ne doit pas pénétrer dans les autres compartiments.
— Elle ne doit s'éliminer que très lentement.
— Elle ne doit subir aucune altération dans l'organisme.
— Elle ne doit pas être nocive.
— Elle doit pouvoir être dosée précisément et facilement.

Aucune substance connue ne répond à toutes ces conditions. Chaque corps utilisé a des propriétés aussi proches que possible de cet idéal.

3. *Mode de calcul d'un espace de dilution.*

Après injection d'une substance dans un organisme on pratique des prélèvements qui permettent de déterminer la concentration de la substance après dilution dans cet organisme. La concentration plasmatique en fonction du temps passe par deux phases : phase de diffusion et phase d'élimination. Cette dernière est représentée par une droite sur papier semi-logarithmique.

La difficulté est de déterminer avec certitude le moment où la diffusion du produit est homogène et complète pour permettre le calcul le plus exact possible. Trois méthodes sont utilisées pour résoudre ce problème.

a) Méthode du prélèvement unique :

Le prélèvement sanguin est effectué au début de la période d'élimination dans un délai que l'expérimentation permettra de déterminer.

Si le corps ne s'élimine pas par l'urine, on admet que la concentration plasmatique C est constante pendant un certain temps, et la formule

$$X = \frac{Q}{C}$$

permet de calculer le volume de diffusion X, Q étant la quantité injectée.

Si E est la quantité de substance éliminée dans l'urine la formule sera :

$$X = \frac{Q - E}{C}$$

Cette méthode comporte des causes d'erreurs car elle néglige les pertes extrarénales et ne fait appel qu'à un seul prélèvement.

b) Méthode dite d'extrapolation :

Cachera et Barbier [12, 13] ont proposé de tracer la courbe théorique d'élimination de la substance étudiée de façon à pouvoir établir le taux virtuel qu'elle aurait atteint si l'élimination avait été nulle.

Si C est la concentration virtuelle au temps O, et Q la quantité injectée, le volume de diffusion X sera :

$$X = \frac{Q}{C}$$

Cette méthode n'est pas à l'abri des critiques.

Certains corps ont en effet une clearance élevée et variable avec la diurèse aqueuse (c'est le cas de l'urée). La pente d'élimination n'est pas constante. Il ne semble pas que ce soit le cas de l'oxyde de tritium, ce qui permet d'utiliser avantageusement cette méthode.

c) Méthode de perfusion continue :

Au lieu d'une injection intraveineuse unique, on utilise une perfusion prolongée et continue de la substance étudiée, de façon à compenser l'élimination du produit. On essaye d'obtenir ainsi une constance rigoureuse du taux plasmatique. Lorsque la concentration plasmatique ne varie plus, on arrête la perfusion et on recueille toutes les urines de façon à doser la quantité totale qui sera éliminée de l'organisme.

On obtient ainsi de bons résultats mais la technique est longue et délicate, ce qui nécessite des expérimentateurs très entraînés. Enfin le taux sanguin peut rester constant si l'apport de la perfusion compense les pertes par voie urinaire bien que l'espace de diffusion ne soit pas complètement occupé.

C'est pourquoi Deane [19] a proposé de déterminer le moment où la concentration devient proportionnelle à la somme des quantités injectées par voie veineuse diminuée de la somme des quantités excrétées par voie rénale. Cette proportionnalité n'est obtenue que si l'espace de diffusion est entièrement occupé. Cette technique est rapide, mais exige une très grande constance dans le débit du produit perfusé.

4. *Expression des résultats.*

On exprime le volume des secteurs hydriques en pourcentage du poids du corps.

Chez l'homme on calcule le poids théorique P, en fonction de la taille selon la formule :

$$P \text{ (en Kg)} = T \text{ (en cm)} - 100 - \frac{T - 150}{4}$$

Chez l'animal le calcul d'une telle formule est difficile et inapplicable.

II. — PRINCIPALES METHODES UTILISEES POUR LA MESURE DE L'EAU TOTALE.

Certaines substances introduites dans l'organisme se répartissent de façon homogène dans un espace de diffusion superposable à celui de l'eau.

Chacune de ces substances a donné naissance à une technique qui lui est propre ; ce sont ces différentes méthodes de mesure que nous allons étudier maintenant.

1. *Sulfanilamide, urée, thiourée.*

Ces trois corps paraissent posséder les propriétés requises pour être utilisés en vue de calculer le volume de l'eau totale.

Cependant la Sulfanilamide semble ne pouvoir être utilisée que chez le chien. En effet, chez cette espèce, cette substance est moins conjuguée au niveau du foie et du rein que chez les autres. La sulfanilamide est dosée par diazoréaction.

Le volume de distribution de l'urée, chez le chien est superposable à celui de l'eau totale (63 % et 62,5 %) comme l'a montré Painter [53] Certains auteurs, cependant, ont mis en doute la parfaite homogénéité de répartition de l'urée. Cette homogénéité ne serait réelle que lors de l'introduction de doses importantes d'urée.

La thiourée s'est révélée plus ou moins toxique chez le chien (10 g par Kg en injection intraveineuse est mortelle en moins de quatre heures selon les travaux de Nicolas et Lebduska [50]).

De plus, les résultats obtenus sont excessifs (70 % à 86 % du poids du corps). Chesley [15] enfin, met en doute la distribution homogène dans toute l'eau du corps. Aussi cette méthode n'est-elle plus utilisée pour déterminer le volume de l'eau totale.

2. *Antipyrine.*

Ce furent Brodie, Axelrod, Sobermann et Lévy [10], Hollander et Steele [37] qui étudièrent cette substance.

a) Propriétés de l'antipyrine :

— Répartition homogène et rapide.

Des expériences menées chez le chien montrèrent que l'antipyrine se distribue d'une façon homogène dans tous les organes à l'exception

du poumon où la concentration est inférieure, et du foie et du rein où elle est supérieure.

Le temps de distribution de l'antipyrine est de deux heures après l'injection.

— Non toxicité.

La dose de 75 mg par Kg en injection intraveineuse administrée par SOBERMANN [62] à une cinquantaine d'animaux ne se révéla pas toxique pour ces derniers, si ce n'est que cinq chiens présentèrent une salivation excessive.

— Transformation dans l'organisme.

Pour mesurer cette transformation on utilise la technique de distribution.

On constate que la distribution de l'antipyrine plasmatique dans les solvants est la même que celle de l'antipyrine pure. Ses propriétés dans l'organisme ne sont pas modifiées.

Chez l'homme le taux du métabolisme de l'antipyrine a une variation moyenne de 6 % par heure. Ce taux est à peu près constant après 12 heures. Cette transformation atteint chez le chien 30 % par heure, aussi n'est-il pas indiqué d'utiliser l'antipyrine pour mesurer l'eau totale dans cette espèce.

— Excrétion.

Seulement 0,3 % à 0,6 % de la quantité injectée serait excrétée par l'urine dans les quatre heures suivant l'injection. Cette quantité est négligeable.

b) Méthodes de dosage de l'antypirine :

Deux procédés d'égale valeur sont utilisés pour doser l'antipyrine dans le plasma : la méthode par extraction et la méthode par précipitation.

L'extraction utilise du chloroforme qu'on laisse évaporer à la température ambiante.

La précipitation utilise le sulfate de zinc.

Le principe du dosage consiste à former une nitroso-antipyrine dont le spectre d'absorption en ultra-violet permet une évaluation spectrophotométrique (lecture à 350 mμ).

Une réaction est faite avec une solution d'antipyrine à 100 μ g/ml. La lecture du témoin s'effectue 20 minutes après la réaction, celle de l'échantillon 30 minutes après celle-ci.

Les densités optiques sont proportionnelles à la concentration. Une concentration de 10 μ g/ml d'antipyrine donne une densité optique d'environ 0,350.

Cette méthode, nous l'avons vu, ne peut être utilisée chez toutes les espèces, par contre elle donne d'excellents résultats chez les rongeurs où elle est contrôlée par la dessiccation.

3. *Oxyde de deutérium.*

Les propriétés chimiques et biologiques de l'oxyde de deutérium ou eau lourde étant les mêmes que celles de l'eau il est évident que c'est une substance de choix pour la mesure de l'eau totale. L'eau lourde possède par ailleurs les propriétés exigibles pour une telle mesure.

Sa pénétration est très rapide, son élimination est extrêmement lente. Le taux plasmatique de l'oxyde de deutérium reste constant pendant 20 heures environ.

a) *Technique* (d'après Hamburger et Mathé [32]).

On injecte une solution isotonique stérile d'eau lourde dosée à 99,8 %.

On prélève des échantillons de sang deux ou trois heures après l'injection. Après coagulation le sérum est distillé deux fois sous vide. L'eau sérique obtenue permet le dosage de D2 O.

Deux méthodes sont utilisées : la densimétrie et la spectrométrie de masse.

Cette dernière méthode est complexe et demande un matériel et un personnel hautement spécialisés, nous ne la citons que pour mémoire.

b) Dosage par densimétrie

La méthode consiste à comparer la densité d'une goutte d'eau sérique contenant une quantité inconnue d'oxyde de deutérium, à celle d'une goutte contenant une quantité connue de D2 O.

On utilise la technique de la « goutte tombante ». C'est un dosage de grande précision.

On compare la vitesse de chute des gouttes avec celles de solutions standard ce qui permet de déterminer la teneur en eau lourde de l'échantillon.

Cette méthode donne des résultats concordants, suivant les différents auteurs.

Cependant, il y aurait des échanges isotopiques entre l'hydrogène de D2 O et les hydrogènes labiles des ions bicarbonates et des fonctions carboxyle et hydroxyle. Il y a échange au niveau de la peau et du muscle entre les atomes d'hydrogène des protéines et du deutérium dans une proportion de 4 à 8 %, selon les travaux de Krogh et Ussing [43]

4. *Oxyde de tritium.*

a) Propriétés justifiant son emploi dans la mesure de l'eau totale :

De même que l'eau lourde, l'oxyde de tritium (H_2^3 O ou HTO) possède des propriétés chimiques et biologiques identiques à l'eau pure, ce qui assure une diffusion uniforme et rapide dans l'organisme (environ 30 minutes).

L'élimination de HTO est lente puisque Pinson et Langham [56]

situent sa 1/2 période biologique chez l'homme à 11,5 jours. Les mêmes auteurs étudiant la toxicité de l'oxyde de tritium définissent la dose de 3,7m Ci comme dose maximale pour le corps humain.

Les concentrations de HTO maximales permises pendant 24 heures consécutives sont pour l'homme :

— dans l'air : 5.10^{-6} μ Ci/ml.

— dans l'eau : 0,1 μ Ci/ml.

Les concentrations utilisées sont toujours très inférieures aux concentrations maximales.

Ces propriétés justifient pleinement l'emploi de l'oxyde de tritium dans la mesure de l'eau corporelle totale.

b) Principe de la mesure :

Une technique simple fut mise au point par Moens, Busset, Collet, Nagant de Deuxchaisnes et Mach [47]. Ces auteurs pratiquent une injection intraveineuse de la solution tritiée et rincent la seringue avec le sang du patient. Des prises de sang sont effectuées en un autre point du corps pendant les 6 heures suivantes à intervalles réguliers. Les échantillons de sang sont recueillis dans des tubes de verre héparinés.

Après centrifugation 0,1 ml de sérum est prélevé et déféqué avec 0,2 ml d'acide trichloracétique à 10 %, le mélange est centrifugé.

0,1 ml de surnageant est alors placé dans la solution scintillante destinée à la mesure de la radioactivité.

Une dilution au 1/2.000e de la solution tritiée est effectuée ; un prélèvement de 0,1 ml de cette solution diluée subit les mêmes manipulations que le sérum.

On prépare ainsi plusieurs échantillons dont la moyenne permettra de calculer la dose de radioactivité injectée.

Une formule établie par Moens permet de calculer le volume d'eau totale :

$$\text{Eau totale (ml)} = \frac{\text{radioactivité injectée (C.p.m.)}}{\text{radioactivité plasmatique (C.p.m./ml)}}$$

Ces auteurs trouvent une différence de 1,6 % entre des valeurs connues et les résultats obtenus par cette technique.

La méthode utilisant l'oxyde de tritium pour la mesure de l'eau totale semble répondre à tous les critères exigibles, c'est cette méthode de choix que nous allons utiliser.

MÉTHODE UTILISANT L'OXYDE DE TRITIUM

MATERIEL ET METHODE

Nous avons déterminé l'eau totale chez des lapins adultes (de race fauve de Bourgogne) des deux sexes tous en parfaite santé.

I. — L'EAU TRITIEE.

L'eau tritiée que nous avons utilisée nous a été fournie par le Commissariat à l'énergie atomique (C.E.A.), Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay à Gif-sur-Yvette, sous forme d'une solution isotonique stérile, ayant une activité spécifique de 1 m Ci/ml.

Nous avons dilué cette solution au $1/10^e$, aussi l'eau tritiée que nous avons utilisée avait-elle une activité spécifique de 100 μ Ci/ml.

II. — LES ANIMAUX ET LEUR PREPARATION.

1. *Raison du choix.*

Pour établir une méthode de mesure de l'eau totale chez les animaux domestiques, il nous est apparu indispensable d'utiliser en premier lieu un animal monogastrique, facile à manipuler, d'un poids suffisamment élevé pour éviter l'emploi de doses trop faibles de tritium. Le lapin nous est apparu être l'animal de laboratoire répondant le mieux aux critères imposés.

2. *Préparation.*

Les lapins utilisés étaient tous âgés d'environ trois mois, pesaient entre 2 et 3 Kg, et provenaient tous du même élevage.

Tous ces animaux étaient à jeun depuis quinze heures avant le début des expérimentations et le sont restés pendant toute leur durée. Ils furent pesés immédiatement avant l'injection d'eau tritiée.

III. — PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

1. *Technique de ponction intracardiaque.*

Il nous est apparu que la voie intracardiaque chez le lapin semblait être d'un accès commode pour les ponctions et les injections.

Différentes ponctions de sang réalisées sur des lapins par voie intracardiaque nous ont montré qu'il était possible de prélever six échan-

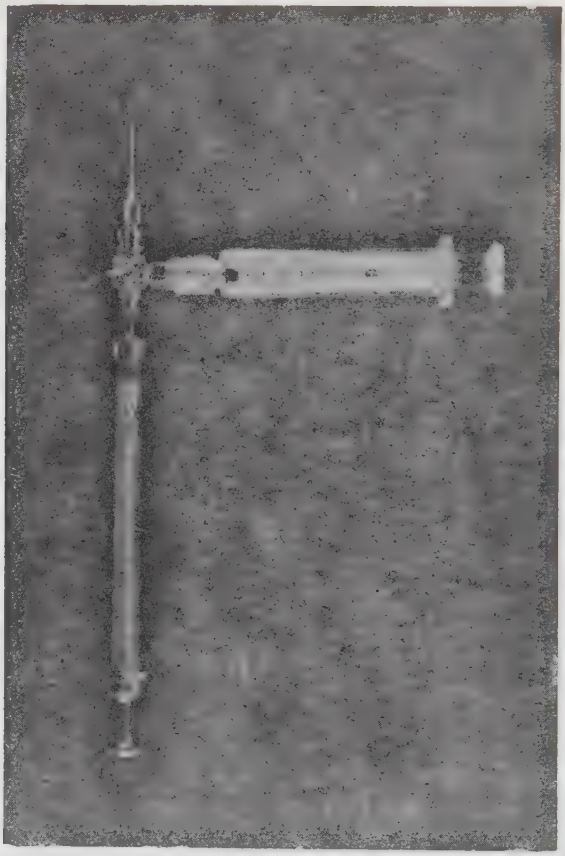
tillons de sang d'un volume de 5 ml sur le même animal en l'espace de 4 heures sans que celui-ci semble en souffrir. Enfin, nous avons vérifié que les animaux supportaient jusqu'à 10 ou 12 ponctions ou injections de 0,5 à 1,5 ml en 24 heures.

Ces prélèvements sanguins sont effectués chez le lapin au niveau du tiers inférieur du cinquième espace intercostal après aseptisation à l'alcool, avec du matériel stérile. Nous avons utilisé pour ce faire des aiguilles hypodermiques 32, 12/10e.

2. *Le blanc.*

Avant chaque injection nous prélevons un volume de 5 ml de sang auquel nous faisons subir les mêmes manipulations qu'aux prélèvements après injection d'HTO.

Le rayonnement émis par le sérum ainsi recueilli est de 30 c.p.m. environ.



3. *Injection.*

a) matériel.

Nous utilisons conjointement deux seringues et un robinet à trois voies.

Une première seringue que nous avons soigneusement calibrée, contient l'eau tritiée. La deuxième contient une solution isotonique stérile de chlorure de sodium. Le robinet nous permet de faire passer la solution de chlorure de sodium dans la seringue qui a contenu l'oxyde de tritium de façon à en effectuer un rinçage (Cf. photographie p. 22).

b) Technique.

L'animal doit être tenu fermement de façon à éviter des mouvements inopportuns qui pourraient faire sortir l'aiguille du cœur pendant l'injection. Il peut être contenu par un aide ou dans un appareil destiné à cet effet.

Après ponction nous vérifions que nous sommes bien en relation avec l'appareil circulatoire en aspirant une petite quantité de sang au moyen de la seringue contenant la solution isotonique de chlorure de sodium. Ce sang ne contenant encore aucune substance radioactive pourra être réinjecté à l'animal.

La seringue de précision nous permet alors d'injecter la dose de 50 µ Ci de tritium par Kg de poids vif. Nous rinçons trois fois cette seringue à l'aide de la solution de chlorure de sodium ; chaque fois nous injectons la solution au lapin, ainsi, il reçoit un volume triple à celui de l'eau tritiée initiale et pratiquement la totalité de l'oxyde de tritium.

4. *Prélèvements.*

Les prélèvements sont effectués par voie intracardiaque, avec des aiguilles et des seringues stériles chaque fois différentes.

Etant donnée la fatigue que peuvent entraîner chez l'animal les ponctions, nous les avons réduites au nombre de cinq en ce qui concerne les prélèvements.

La concentration de l'oxyde de tritium étant maximale et pratiquement constante après deux heures, comme nous avons pu le vérifier, nous avons effectué les prélèvements 30 mn puis 1, 2, 3 et 4 heures après l'injection. Le volume de chacun était de 1,5 ml.

Lors de la recherche de la demie-vie biologique de HTO chez le lapin, nous avons poursuivi ces prélèvements à raison d'un toutes les 12 heures.

5. *Préparation des échantillons de sérum.*

Chaque échantillon de sang est immédiatement recueilli dans un tube à centrifugation et centrifugé pendant 10 minutes à 2.500 t/mn. Le sérum ainsi obtenu peut être traité de trois manières avant d'être mélangé à la solution scintillante.

a) Utilisation directe :

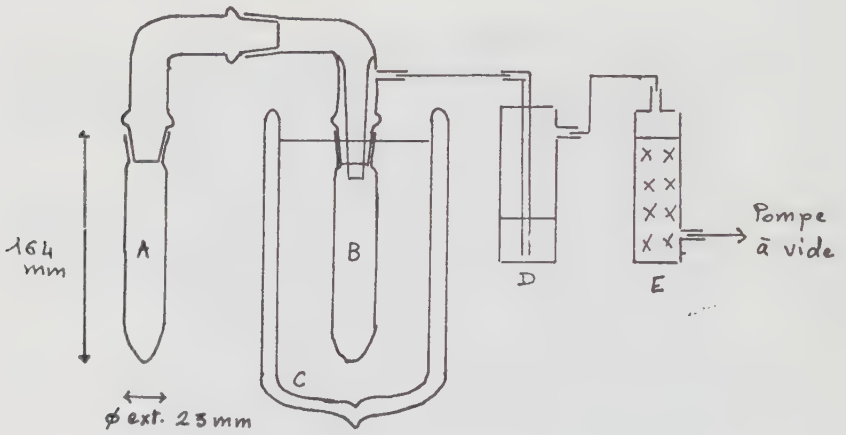
Nous prélevons 0,1 ml de sérum surnageant que nous mélangeons à la solution scintillante, sans aucun autre traitement.

b) Défécation par l'acide trichloracétique ;

Nous prélevons 0,5 ml de sérum à l'aide d'une pipette et nous le recueillons dans un tube stérile. Nous ajoutons 1 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 10 %. Nous agitons, puis nous centrifugeons pendant 5 minutes à 2.500 t/mn. Du surnageant nous prélevons 0,1 ml que nous plaçons dans la solution scintillante.

c) Distillation sous vide :

Nous nous sommes inspiré des travaux de BOLING [9] et FAVARGER et coll. [25] pour mettre au point cette technique.



A : Tube cylindrique en pyrex contenant 0,5 ml de sérum congelé par une immersion rapide dans un mélange alcool-glace carbonique. — B : Tube cylindrique en pyrex entièrement immergé dans C. — C : Vase de Dewar contenant de l'alcool et de la glace carbonique (— 50° C). — D : Piège à eau. — E : Piège à Silicagel.

— Principe :

Nous congelons l'échantillon de sérum, puis nous effectuons une distillation sous vide qui nous permet de recueillir toute l'eau et l'oxyde de tritium de l'échantillon, sous forme congelée.

— Matériel :

Nous utilisons une chaîne à distillation qui comprend :

— un tube cylindrique, A, en pyrex qui contient 0,5 ml de l'échantillon de sérum.

— Deux tubes coudés dont un est relié à la pompe à vide.

— un tube cylindrique, B, en pyrex dans lequel nous recueillons l'eau et l'oxyde de tritium.

— un vase de DEWAR, C, contenant 30 litres d'alcool dans lequel nous immergeons de la neige carbonique. Le mélange atteint la température de — 45° C à — 50° C

— un piège à eau, D.

— un piège à Silicagel, E.

— une pompe à vide.

Nous utilisons 12 de ces chaînes en même temps, toutes reliées à la même pompe à vide.

— Technique :

L'échantillon de sérum est placé dans le tube A, il est congelé par immersion pendant quelques secondes dans un mélange d'alcool et de neige carbonique. Le tube A est fixé sur la chaîne à distillation, la pompe à vide est mise en marche.

Pendant ce temps, nous faisons passer un courant d'eau tiède (30 à 35° C) autour de la pointe du tube A, de façon à accélérer l'évaporation de l'échantillon. En 15 minutes 0,5 ml de sérum est complètement distillé. Le distillat est recueilli dans le tube B.

Après décongélation nous en prélevons 0,1 ml que nous plaçons dans un flacon contenant la solution scintillante.

Remarque.

Une très faible quantité d'oxyde de tritium souillant la verrerie peut entraîner de graves erreurs de comptage. C'est pourquoi, pour obtenir une verrerie parfaitement propre, nous opérons de la façon suivante :

— lavage à grande eau pendant deux heures,

— nettoyage au Teepol,

— immersion pendant 24 heures dans le mélange sulfochromique,

— lavage à grande eau pendant 30 minutes,

— rinçage final à l'eau bidistillée,

— séchage et conditionnement sous papier d'aluminium.

6. *Préparation des solutions d'étalonnage.*

La préparation de la solution d'étalonnage est la même pour le sérum normal ou distillé, elle est différente pour le sérum déféqué.

a) Sérum déféqué :

On pratique une dilution au 1/2.000^{e} à partir de la solution d'eau tritiée à injecter. Après agitation, on prélève 1 ml que l'on place dans un tube, on ajoute 2 ml de solution d'acide trichloracétique à 10 %, on mélange, on centrifuge pendant 5 minutes à 2.500 t/mn. On prélève

5 fois 0,1 ml de cette solution que l'on place dans cinq flacons contenant la solution scintillante.

De façon à obtenir une meilleure précision nous réalisons trois dilutions au 1/2.000^{e} dont nous prenons la moyenne après comptage.

b) Sérum normal ou distillé :

On effectue les mêmes dilutions au 1/2.000^{e}, on prélève directement cinq fois 0,1 ml de solution que l'on place dans cinq flacons contenant la solution scintillante.

IV. — MESURE DE LA RADIOACTIVITE DU SERUM.

1. *Matériel : choix d'une solution scintillante.*

Nous utilisons pour compter les échantillons un spectrophotomètre à scintillation liquide Tricarb Packard Modèle 3003. Les flacons Packard d'un volume de 20 ml sont en verre spécial à faible teneur en potassium.

Nous avons essayé de faire varier la composition de la solution scintillante en utilisant 200, 225 et 250 ml d'éthanol absolu ; les meilleurs résultats furent obtenus avec 200 ml.

Aussi la composition de la solution scintillante que nous utilisons est-elle la suivante :

— toluène pour analyse Merck : 1.000 ml,

— éthanol absolu R. P. prolabo : 200 ml,

— 2 - 5 Diphényloxazole (PPO) Packard : 4 g,

— 1, 4 bis - 2 - (4 méthyl - 5 - phényloxazolyl) benzène diméthyl (POPOP) Packard : 0,04 g.

Après différents essais avec 10 et 15 ml de solution scintillante, il est apparu que les meilleurs résultats du point de vue du rendement étaient obtenus avec 15 ml de solution.

2. *Technique.*

0,1 ml de solution sérique est dilué dans 15 ml de solution scintillante. Les flacons sont hermétiquement fermés puis soigneusement essuyés à l'aide d'un linge propre et placés dans l'appareil.

Le gain du spectrophotomètre à scintillation liquide est fixé à 50 %, les fenêtres sont 50 - 900. Les échantillons sont tous passés pendant un temps de 20 minutes de façon à toujours compter plus de 10.000 coups ce qui assure une précision statistique de 1 %.

V. — DETERMINATION DE LA RADIOACTIVITE INJECTEE ET DE L'EAU TOTALE.

1. *Radioactivité injectée.*

Ici encore nous devons distinguer d'une part les échantillons préparés à partir de sérums déféqués, d'autre part ceux préparés à partir de sérum normal ou distillé.

La radioactivité injectée est calculée à partir de la moyenne des différentes solutions étalons.

a) Sérum déféqué :

La radioactivité injectée peut être calculée suivant la formule :

Rad. inj. = p × 2.000 × 3 × 10 × 15 × n.

— p = radioactivité mesurée de la solution étalon préparée comme il est indiqué plus haut (c.p.m./ml).

— n = nombre de ml d'eau tritiée injectés à l'animal

— 2.000, 3, 10, 15 = facteurs de dilution des solutions étalons.

b) Sérum normal ou distillé :

Ici la radioactivité injectée sera :

Rad. inj. = p × 2.000 × 10 × 15 × n.

— p = radioactivité mesurée de la solution étalon préparée comme il est indiqué plus haut (c.p.m./ml.).

— n = nombre de ml d'eau tritiée injectés à l'animal.

— 2.000, 10, 15 = facteurs de dilution des solutions étalons.

2. *Eau totale.*

La quantité d'eau totale est déterminée par le rapport de la radioactivité injectée (c.p.m.) sur la radioactivité sérique (c.p.m./ml) soit :

$$\text{Eau totale (ml)} = \frac{\text{Radio. inj. (c.p.m)}}{\text{Radio. sérique (c.p.m./ml)}}$$

Si l'on utilise les formules énoncées plus haut, l'eau totale sera :

$$\text{Eau totale} = \frac{p \times 2.000 \times n}{p'}$$

où p' est la radioactivité sérique mesurée (c.p.m./ml).

RESULTATS

I. — DEMI-VIE BIOLOGIQUE DU TRITIUM CHEZ LE LAPIN.

Nous avons mené cette expérimentation chez treize animaux. Les prélèvements furent effectués toutes les douze heures après l'injection.

Les résultats ainsi obtenus nous ont permis d'évaluer la demi-vie biologique du tritium chez le lapin à 11 jours 12 heures (± 6 heures).

II. — SERUMS DEFEQUES PAR L'ACIDE TRICHLORACETIQUE.

Les résultats obtenus sur seize lapins sont consignés dans le tableau A ci-après.

Tableau A. — Volume d'eau totale en fonction du temps écoulé à partir de l'injection d'eau tritiée. Sérums déféqués par l'acide trichloracétique (résultats en ml et en p. 100 du poids du corps).

N°	Sexe	Poids en g	1er Prélèv. 30 mn		2e Prélèv. 1 h		3e Prélèv. 2 h		4e Prélèv. 3 h		5e Prélèv. 4 h	
			ml	%	ml	%	ml	%	ml	%	ml	%
2	F	2370	1090	45,90	1283	54,13	1130	47,67	—	—	1353	57,08
4	M	2383	1494	62,69	1996	83,75	1640	68,82	1700	71,33	—	—
5	M	2725	1359	49,96	1715	63,05	2552	93,82	1542	56,69	1582	58,16
6	M	2477	1983	79,95	1676	67,57	2172	87,67	1649	66,49	1633	65,84
7	F	1530	597	39,01	991	64,77	941	61,50	1000	65,35	779	50,91
8	F	2865	2281	79,61	2401	83,80	2255	78,70	2072	72,32	2067	72,14
9	F	2095	1434	68,44	819	20,95	1236	58,99	1583	75,56	1528	72,93
10	F	2338	1395	59,66	1572	67,23	1690	72,28	1584	67,75	1835	78,48
57	F	2355	—	—	—	—	1314	55,75	—	—	—	—
58	F	1464	—	—	—	—	809	55,25	—	—	—	—
59	F	2378	—	—	—	—	1713	72,05	—	—	—	—
60	M	2845	—	—	—	—	2399	84,32	—	—	—	—
61	F	1793	—	—	—	—	1548	86,33	—	—	—	—
62	M	2546	—	—	—	—	1452	57,03	—	—	—	—
63	M	2124	—	—	—	—	1042	49,08	—	—	—	—
64	M	2017	—	—	—	—	1751	86,81	—	—	—	—
Moyenne		2268	1454	60,65	1556	63,15	1603	69,93	1590	67,92	1539	65,07

La valeur moyenne de l'eau totale 2 heures après l'injection est de 69,93 ± 15 p. 100 du poids du corps. A partir des valeurs à 3 h et 4 h aucune conclusion ne peut être tirée quant à l'équilibre entre l'eau tritiée et l'eau totale de l'organisme.

III. — SERUMS DIRECTEMENT COMPTES.

Les résultats obtenus sur trente-deux lapins sont consignés dans le tableau B.

Tableau B. — Volume de l'eau totale en fonction du temps écoulé à partir de l'injection d'eau tritiée. Sérums non traités (résultats exprimés en ml et en p. 100 du poids du corps).

N°	Sexe	Poids en g.	1er Prélèv. 30 mn		2e Prélèv. 1 h		3e Prélèv. 2 h		4e Prélèv. 3 h		5e Prélèv. 4 h	
			ml	%	ml	%	ml	%	ml	%	ml	%
1	F	2260	1527	67,56	1568	69,38	1681	74,38	1647	72,87	1713	75,79
4	M	2383	1376	57,74	2187	91,77	2118	88,87	2228	93,49	2138	89,71
5	M	2725	1675	61,47	1823	66,89	2032	74,56	1895	69,54	1845	67,70
6	M	2477	1580	63,70	1758	70,88	1616	65,16	1758	70,88	1763	71,08
7	F	1530	1009	65,94	1118	73,07	1159	75,75	1121	73,26	1121	73,26
8	F	2865	2036	71,20	2292	80,10	2254	79,95	2227	77,92	2375	83,10
9	F	2095	1543	73,82	1596	76,42	1653	79,10	1616	77,32	1858	88,97
10	F	2338	1591	68,00	1625	69,41	1646	70,40	1754	75,02	1898	81,18
11	M	2151	——	——	1461	67,90	1542	71,70	1497	69,60	1475	68,60
12	M	2147	1338	62,20	1510	70,20	1454	67,60	1466	68,20	1413	65.70
13	M	1951	1305	66,80	1299	66,50	1447	74,10	1348	69,00	1535	78,60
14	M	2514	1720	68,50	1809	72,00	1841	73,30	1699	67,70	1691	67,40
15	M	2271	1470	64,70	1550	68,30	1817	80,00	1554	68,40	1636	72,00
16	M	2206	1409	63,80	1441	65,30	1481	67,10	1491	67,60	——	——
17	M	2269	1380	60,80	1438	63,40	1523	67,10	1503	66,20	1534	67,60
18	M	2457	1530	62,20	1573	63,90	1498	60,90	1741	70,80	1811	73,60
19	M	2457	1570	63,00	1728	69,30	2010	80,00	2017	81,00	1970	79,10
20	M	2390	1598	67,10	1665	69,10	1783	74,90	1789	75,10	1749	73,40
21	M	2134	1465	68,70	1469	68,90	1513	71,00	1632	76,20	1664	78,10
26	M	2556	1624	63,53	1758	68,77	1739	68,03	1714	67,05	1703	66,62
28	M	3390	2340	69,02	2304	67,96	2244	66,19	2320	68,43	2218	65,42
30	M	2145	1431	66,71	1487	69,32	1620	75,52	1577	73,51	1543	71,93
31	M	1930	1480	76,68	1491	77,25	1465	75,90	1576	81,65	1533	79,43
32	M	1898	1355	71,39	1368	72,07	1386	73,02	1450	76,39	1339	70,54
34	F	1973	1430	72,47	1428	72,37	1637	82,97	1522	77,14	1492	75,62
35	F	1860	1201	64,56	1311	70,48	1596	85,80	1333	71,93	1503	81,07
36	F	1735	1320	76,08	1260	72,62	1361	78,44	1483	85,47	1422	81,95
37	F	2397	1784	74,42	1887	78,72	1902	79,34	1901	79,34	1903	79,34
38	F	1979	1527	77,16	1859	93,93	1562	78,92	1569	79,28	1534	77,51
39	F	2070	1649	79,66	1703	82,27	1785	86,23	1846	89,17	1877	90,67
40	F	2485	1805	72,63	1862	74,92	1886	75,89	1933	77,98	1876	75,49
41	F	2318	1502	64,79	1650	71,18	1671	72,08	2033	87,63	1777	76,66
42	F	2282	1655	72,52	1944	85,18	1718	75,28	——	——	——	——
Moyenne		2262	1538	68,09	1643	72,74	1686	74,85	1695	75,18	1763	78,23

La valeur moyenne de l'eau totale 2 heures après l'injection est de 74,8 ± 6,4 p. 100 du poids du corps.

IV. — SERUMS DISTILLES.

1. *Méthode du prélèvement unique.*

Les résultats obtenus sur trente-sept lapins sont consignés sur le tableau C.

N°	Sexe	Poids en g	1er Prélèv. 30 mn.		2e Prélèv. 1 h.		3e Prélèv. 2 h.		4e Prélèv. 3 h.		5e Prélèv. 4 h.		Vol. p. 100
			ml	%	ml	%	ml	%	ml	%	ml	%	
26	M	2556	1573	61,65	1629	63,73	1689	66,07	1622	63,45	1744	68,23	61,26
27	M	2623	1737	66,22	1748	66,64	1748	66,64	1759	67,06	1765	67,28	66,22
28	M	3390	1993	58,79	2104	62,06	2235	65,92	2203	64,98	2111	62,27	59,02
29	M	2193	1407	64,15	1509	68,49	1650	75,23	1559	71,03	1542	70,31	65,33
30	M	2145	1343	62,61	1380	64,33	1481	69,04	1444	67,31	1465	68,29	63,96
31	M	1930	1297	67,20	1400	72,53	1415	73,31	1402	72,64	1615	83,67	66,67
32	M	1898	1334	70,26	1335	71,39	1428	75,23	1230	64,80	1349	71,07	70,23
34	F	1973	1326	67,08	1363	69,08	1430	72,47	1453	73,64	1435	72,73	66,85
35	F	1860	1169	62,84	1378	74,08	1249	67,15	1326	71,29	1360	73,11	69,13
36	F	1735	1247	71,87	1230	70,89	1254	72,27	1230	70,89	1278	73,65	69,16
37	F	2397	1606	67,00	1696	70,75	1784	74,42	1925	80,30	1890	78,84	66,91
38	F	1970	1335	67,45	1457	73,62	1509	76,25	1548	78,22	—	—	71,80
39	F	2070	1390	67,14	1551	74,92	1546	74,68	1556	74,97	1575	76,08	67,82
40	F	2485	1831	73,68	1706	68,65	1865	75,05	1824	73,40	1842	74,12	68,32
41	F	2318	1427	61,56	1515	66,65	1663	71,87	1655	71,39	1624	70,06	65,35
42	F	2282	1543	67,83	1565	68,58	1706	74,75	—	—	—	—	63,71
43	M	2145	1430	66,06	1515	70,62	1579	73,61	1579	73,61	1593	74,49	65,45
44	M	2017	1280	63,46	1264	62,66	1288	63,85	1319	65,39	1306	64,74	62,61
45	M	2205	1502	68,11	—	—	—	—	1514	68,66	1660	75,26	66,39
46	M	3420	2300	67,25	2239	65,46	2349	68,68	2482	72,57	--	--	64,12
47	M	2913	1849	63,40	1793	61,48	1855	63,61	1972	67,62	—	—	61,28
48	M	2451	1353	54,38	1362	55,56	1460	59,56	1429	58,30	—	—	54,79
49	M	1792	—	—	1243	69,36	1253	70,20	1122	62,61	1264	71,65	65,21
50	M	2017	—	—	1369	67,87	1406	69,70	1510	74,86	1509	74,81	65,56
51	M	1854	—	—	1262	67,70	1174	63,32	1322	71,30	1500	80,96	58,24
52	F	1795	—	—	1143	63,67	1256	69,97	1267	70,58	1250	69,63	65,47
53	M	2053	—	—	—	—	1722	83,88	—	—	—	—	71,43
54	F	1838	—	—	—	—	1324	71,98	—	—	—	—	67,62
55	F	1865	—	—	—	—	1370	73,45	—	—	—	—	68,71
56	M	1658	—	—	—	—	1291	77,87	—	—	—	—	71,21
57	F	2355	—	—	—	—	1736	73,71	—	—	—	—	68,36
58	F	1464	—	—	—	—	1069	73,03	—	—	—	—	67,41
59	F	2378	—	—	—	—	1540	64,76	—	—	—	—	61,81
61	F	1793	—	—	—	—	1426	79,53	—	—	—	—	71,06
62	M	2546	—	—	—	—	1695	66,57	—	—	—	—	60,95
63	M	2124	—	—	—	—	1416	66,66	—	—	—	—	61 54
64	M	2017	—	—	—	—	1339	66,38	—	—	—	—	61,27
Moyenne		2256	1511	65,48	1503	67,44	1531	70,76	1570	70,23	1556	70,24	65,73

Tableau C. — Volume de l'eau totale en fonction du temps écoulé à partir de l'injection d'eau tritiée. Sérums distillés (résultats exprimés en ml et en p. 100 du poids du corps).

La dernière colonne de ce tableau représente les volumes d'eau totale en pourcentage du poids du corps calculés par la méthode de CACHERA et BARBIER.

La valeur moyenne de l'eau totale 2 heures après l'injection est de 70,76 ± 4,6 p. 100 du poids du corps. Les résultats obtenus à 3 heures et à 4 heures permettent de noter que l'équilibre entre l'eau tritiée et l'eau totale de l'organisme est réalisé à partir de la deuxième heure.

2. *Méthode d'extrapolation de* CACHERA et BARBIER.

Les deux figures D et E montrent qu'il y a une élimination d'eau tritiée. Cette élimination est faible mais justifie l'emploi de cette dernière méthode.

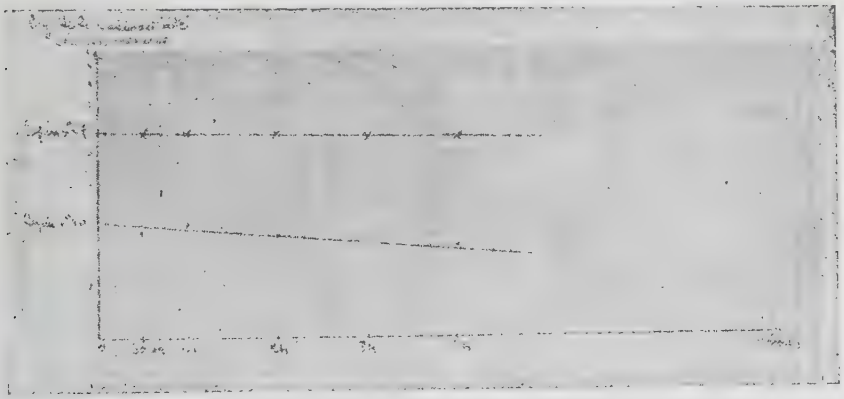


Figure D. — Radioactivité sérique en fonction du temps (lapins n° 27-46)

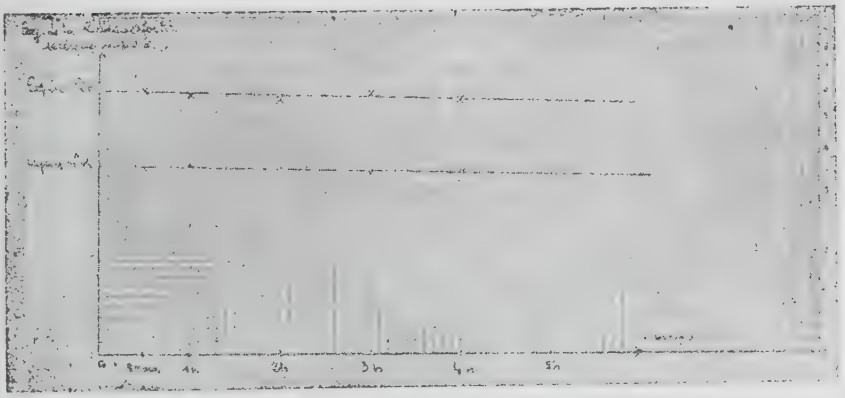


Figure E. — Radioactivité sérique en fonction du temps (lapins n° 26-44)

Les valeurs au temps zéro sont exprimées pour chaque sujet sur le tableau C (dernière colonne). La valeur moyenne de l'eau totale est ainsi plus faible que par la méthode du prélèvement unique. Elle est ici sur trente-sept lapins dont les sérums ont été distillés sous vide de 65,7 ± 3,6 p. 100 du poids du corps. Cette valeur est proche de celle obtenue par la méthode de référence par dessiccation.

V. — METHODE DE REFERENCE PAR DESSICCATION.

Les résultats obtenus sur neuf lapins sont consignés sur le tableau F.

Tableau F. — Volume de l'eau totale obtenu par dessiccation (résultats exprimés en ml et en p. 100). Volume de l'eau 2 heures après l'injection d'eau tritiée, sérums distillés (résultats exprimés en ml et en p. 100 La dernière colonne représente les volumes d'eau totale en pourcentage du poids du corps calculés par la méthode de CACHERA et BARBIER.

N°	Sexe	Poids en g	Dessiccation		Prélèv. 2 h.		Volume p. 100
			ml	p. 100	ml	p. 100	
50	M	2017	1307	64,82	1406	69,70	65,36
52	F	1795	1202	66,95	1256	69,97	65,47
54	M	1838	1196	65,07	1324	71,98	67,62
55	F	1865	1209	64,82	1370	73,45	68,71
56	M	1658	1070	64,53	1291	77,87	71,21
57	F	2355	1425	60,50	1736	73,71	68,36
61	F	1793	1306	72,83	1426	79,53	71,06
62	M	2546	1753	68,85	1695	66,57	60,93
64	M	2017	1298	64,35	1339	66,38	61,27
Moyenne		1987	1307	65,86	1416	72,13	66,66

La valeur moyenne de l'eau totale obtenue par dessiccation est de 65,86 ± 2,1 p. 100.

DISCUSSION

Nous ne reviendrons pas sur la discussion de la technique qui fut faite lors de sa description. Nous retiendrons ici seulement l'existence du phénomène d'extinction ou « quenching », qui se traduit par une diminution de l'intensité de la lumière produite par l'action des particules β sur le scintillateur au sein de la solution scintillante. Les protéines sont une des causes de ce phénomène, ce qui explique que des valeurs trop fortes (74,8 $\pm$ 6,4 p. 100) soient trouvées par la méthode directe. En effet, les pertes de comptage dues au manque de limpidité de la solution sont loin d'être négligeables.

Les valeurs trouvées sont également trop élevées lors de défécation à l'acide trichloracétique, ce phénomène est dû à l'élimination de la totalité des protéines où se trouve incluse une partie de l'eau tritiée à l'état d'eau liée, ce qui entraîne une diminution très sensible du taux de comptage.

La méthode de référence pour la détermination de l'eau totale est la méthode de dessiccation. Ce procédé nous a permis d'établir que le taux habituel de l'eau totale chez le lapin est de 65 % du poids du corps. Ces chiffres sont confirmés par ceux que nous avons trouvés dans la littérature.

La méthode du prélèvement unique, le sérum étant distillé sous vide, donne des résultats un peu trop élevés (70,7 $\pm$ 4,6 p. 100) car elle ne tient pas compte de l'élimination. Cette élimination est peu importante certes, mais on doit en tenir compte car nous l'avons observée dans tous les cas.

Il apparaît que la méthode d'extrapolation de Cachera et Barbier, appliquée aux sérums distillés sous vide, donne des résultats (65,7 $\pm$ 3,6 p. 100) concordant avec ceux obtenus par dessiccation. Nous conseillons donc plus particulièrement cette méthode pour la mesure de l'eau totale chez les animaux.

La plupart des auteurs considèrent que l'eau tritiée surestime légèrement le volume de l'eau totale. Hevesy et Jacobsen [35] et Schloerb et Coll pensent qu'en dehors des échanges tritium-hydrogène de l'eau existent aussi des échanges tritium-hydrogène des molécules organiques. Entre autres à partir des radicaux hydroxyle, carboxyle, amino, imino, etc., où l'atome d'hydrogène n'est pas directement lié au carbone. Pinson [55] évalue à 1 - 2 % cette surestimation de l'eau totale par l'eau tritiée.

CONCLUSION

Il apparaît que la demi-vie biologique du tritium chez le lapin, recherchée chez treize animaux, est de 11 jours 12 heures (± 6 heures).

Pour toute détermination de l'eau totale la méthode de référence est la méthode par dessiccation. Les valeurs données par la littérature et celles obtenues par nous-mêmes (65,8 ± 2,1 p. 100) chez le lapin, établissent que l'eau totale représente environ 65 % du poids du corps). La méthode d'exprapolation de CACHERA et BARBIER, appliquée aux sérums distillés sous vide, donne des valeurs (65,7 ± 3,6 p. 100) concordant avec celles obtenues par dessiccation.

La méthode du prélèvement unique, avec sérum distillé sous vide, donne des chiffres plus forts (70,7 ± 4,6 p. 100). Elle ne tient en effet pas compte d'une légère mais constante élimination de l'eau tritiée au cours de l'expérience.

La méthode de défécation par l'acide trichloracétique et la méthode directe donnent des résultats trop forts (respectivement 69,9 ± 15 p. 100 et 74,8 ± 6,4 p. 100), dus pour l'une à l'élimination d'eau tritiée liée aux protéines, pour l'autre au manque de limpidité de l'échantillon donnant lieu au phénomène d'extinction.

Il apparaît donc que la méthode de choix pour la mesure de l'eau totale chez le lapin vivant est la méthode d'extrapolation de CACHERA et BARBIER appliquée aux sérums distillés sous vide. Mais cette méthode n'est pas particulière au lapin, la même technique peut être appliquée en vue de la mesure de l'eau totale chez d'autres monogastriques.

La connaissance de l'eau totale et de ses variations physiologiques chez les animaux domestiques est en effet la base permettant d'étudier les différents secteurs hydriques de l'organisme et les variations pathologiques de l'eau totale.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Aschbacher (P.W), Kamal (T.H.) et Cragle (R.G.). — *J. Anim. Sci.*, 1965, 24, 430.

[2] Axelrod (J.), Soberman (R.) et Lévy (B.B.). — The use of antipyrine in the measurement of total body water in man (*J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 31).

[3] Benezech (C). — L'eau. Base structurale et fonctionnelle des êtres vivants, 1 vol., Paris, 1962, Masson et Cie, édit.

[4] Bernard (C.). — Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux, 1 vol., Paris, 1878, Baillères, édit.

[5] Bernard (C.). — Leçons sur les propriétés des tissus vivants, 1 vol., Paris, 1866, Baillère, édit.

[6] Bernard (C.). — Leçons de physiologie expérimentale, 1 vol., Paris, 1855, Baillère, édit.

[7] Bernard (C.). — Introduction à l'étude de la médecine expérimentale, 1 vol., Paris, 1865, Flammarion, édit.

[8] Black (A.L.), Bartley (J.C.), Chapman (T.E.) et Phillips (R.N.). — *Science N. Y*, 1964, 144, 3620, 876.

[9] Boling (E.A.). — *Ann. N. Y.*, Acad Sci. 1963, 110, 1, 246.

[10] Brodie (B.B.), Axelrod (I.), Soberman (R.), et Lévy (B.B.). — The estimation of antipyrine in biological materials. *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 25.

[11] Brooks (S.C.). — The permeability of erythrocytes to deuterium oxyde (heavy water). *J. Cell., Comp. Physiol.*, 1935, 7, 163.

[12] Cachera (R.) et Barbier (P.). — L'épreuve du Rhodonate de Na. Méthode de mesure des liquides interstitiels. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1175.

[13] Cachera (R.) et Barbier (P.). — Etude de la diffusion dans l'organisme humain des solutions de Rhodanate de Na introduites par voies veineuses. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1175.

[14] Chauffard (A.), Brodin (P.) et Grigaut (A.). — Diffusibilité cli-

nique comparée de l'acide urique et de l'urée. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, 86, 355.

[15] Chesley (L.C.). — Observations on the absorption, apparent volume of distribution and escretion of thiourea. *J. Clin., Investig.*, 1944, 23, 856.

[16] Coursaget (J.), Fallot (P.) et Chevallier (F.). — 3e *Congrès Méd. Int., Evian 1951,* 1 vol., Paris, 1951.

[17] Crandall (L.A.) et Anderson (M.X.). — *Am. J. dig. Dis.*, 1934, 1, 126.

[18] Danowski (T.S.). — Use of thiourea as a measure of change in body water. *J. Biol. Chem.*, 1944, 152, 207.

[19] Deane (N.), Schreiner (G.E.) et Robertson (J.S.). — The velocity of distribution of sucrose between plasma and interstitial fluid, with reference to the use of sucrose for the measurement of extra cellular fluid in man. *J. Clin., Investig.*, 1951, 30, 1463.

[20] Degrossi (O.), Mendez (M.A.) et Gotta (H.). — *C.N.E.A. Argentina,* 1965, 165, 1.

[21] Dumont (B.L.). — *Annales Zootechn.*, 1955, 4, 315.

[22] Dual (M.). — Perméabilité de quelques globules rouges à quelques urées substituées ou sulfurées. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, 89, 22.

[23] Faller (I.L.), Petty (D.), Last (J.H.), Pascale (L.R.) et Band (E.E.). — *J. Lab. clin. Méd.*, 1955, 45, 748.

[24] Fallot (F.), Aeberhardt (A.) et Masson (J.). — *Int. J. appl.* Radiat. Isotopes, 1963, 4, 1, 60.

[25] Favarger (P.), Collet (R.A.) et Cherbulier (E.). — *Helv. Chim. Acta.*, 1951, 34, 1641.

[27] Fenn (W.O.). — Electrolytes in muscle (*Physiol. Rev.*, 1936, 16, 450).

[28] Flexner (L.B.), Wilde (W.S.), Proctor (W.K.), Cowie (D.B)., Vosburgh (G.H.) et Hellmann (L.M.). — *J. Pédiatrie,* 1947, 30, 413.

[29] Foy (J.M.) et Schnieden (H) : *J. Physiol.*, Lond., 1960, 154, 165.

[30] Garret (W.N.), Meyer (J.H.) et Lofgreen (G.P.). — *J. Anim. Sci.*, 1959, 18, 116.

[31] Giovanelli (G.), Ronchetti (R.) et Vio (A.). — Ateneo parmense, 1963, 34, 5, 427.

[32] Hamburger (I.) et Mathé (G.). — 1 vol., Paris 1952, Flammarion édit.

[33] Hardy (J.D.) et Drabkin (D.L.). — *Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. exp. Biol.*, 1950, 9, 182.

[34] Haxhe (I.I.). — Mesure des Compartiments corporels. Méthodes et résultats. *J. Physiol.*, Paris 1964, 56, 7, 109.

[35] Hevesy (G.V.) et Jacobsen (C.F.). — Rate of passage of water througt capillary and Cell walls (*Acta Physiol. Scandinav.*, 1940, I. 11).

[36] Hix (E.L.), Uderbjerg (G.R.L.) et Hughes (J.J.). — The Body fluids of ruminants and their simultaneous determination. *Amer J. Vet., Rei.*, 1959, 20, 184-191.

[37] Hollander (B.C.) et Stead (E.A.). — Effect of Vasopressin (pitressin) induced water retention on sodium excretion (*Arch. Int. Med.* 1951, 88, 571).

[38] Hurst (W.N.), Schemm (F.R.) et Vogel (W.C.). — *J. Lab. Clin. Méd.*, 1952, 39, 36.

[39] Javal (A.) et Boyet. — La Rétention de l'urée et sa diffusion dans les liquides de l'organisme. *C. R. Soc. Biol.*, 1910, 68, 527.

[40] Keith (N.M.), Rowntree (L.G.) et Geraghty (J.T.). — A method for the determination of plasma and blood volume. *Arch. Med. Int.*, 1915, 16, 547.

[41] Klostermann (E.N.), Johnson (R.R.) et Cahillurtallis (G.M.). — *J. Anim. Sci.*, 1956, 15, 1297.

[42] Kraybill (H.F.), Hankings (O.G.) et Bitter (H.L.). — *J. Appl. Physiol.*, 1951, 3, 681.

[43] Krogh (A.) et Ussing (H.H.). — A note on the permeability of trout eggs to D_2O and H_2^3O. (*J. Exper. Biol.*, 1937, 14, 35).

[44] Langham (W.H.), Eversole (W.S.), Hayes (F.N.) et Trujillo (T.T.). — *J. Lab. Clin. Méd.*, 1956, 47, 819.

[45] Mac Fadden (D.U.) et Richards (D.S.). — J. Dairy *Sci.*, 1956, 39, 1438.

[46] Marshall (E.K. Jr.) et Merson (K. Jr.) et Cutting (W.C.). — *J. Pharmac. exp. Ther.*, 1937, 61, 196.

[47] Moens (R.S.), Busset (R.), Collet (R.A.), Nagant de Deuxchaisnes et Mach (R.S.). — *Schweiz med. Wschr.*, 1963, 93, 26, 932.

[48] Moens (R.S.), Busset (R.), Collet (R.A.), Nagant de Deuxchaisnes et Mach (R.S.). — *Schweiz. med. Wschr.*, 1963, 93, 27, 965.

[49] Moore (F.D.). — Determination of total body water and solids with isotopes (Scince, 1946, 104, 157).

[50] Nicolas (E). et Lebduska (J.). — *Compte rendu Acad.*, 186, 1441, 1928.

[51] Pace (M.) et Rathbon (E.N.). — Studies on body composition III. The Body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content. *J. Biol. Chem.*, 1945, 158, 685.

[52] Pace (N.), Kline (L.), Schachman (H.K.) et Harfenist (M.). — *J. Biol. Chem.*, 1947, 168, 459.

[53] Painter (E.E.). — *Am. J. Physiol.*, 1940, 129, 6744.

[54] Panaretto (B.A.). — *Aust. J. Agric. Res.*, 1963, 14, 4, 591.

[55] Pinson (E.A.). — Water exchange and barriers as studied to the use of hydrogen isotopes (*Physiol. Rev.*, 1952, 32, 123).

[56] Pinson (E.A.) et Langham (W.H.). — Physiology and toxicology of tritium in man (*J. Appl. Physiol.*, 10, 108, 126).

[57] Prentice (I.C.), Siri (W.), Hyde (G.M.), Parsons (R.J.), Joiwer (E.E.) et Lawrence (J.H.). — *J. Clin. Investig*, 1952, 31, 412.

[58] Reid (J.T.), Balch (C.C.), Head (M.J.) et Straud (J.W.). — *Nature, Lond.*, 1957, 170, 1034.

[59] Reid (J.T.), Balch (C.C.) et Glascock. — *Br. J. Nutr.*, 1958, 12, 43.

[60] Richmond (C.R.), Langham (W.H.) et Trujillo (T.T.). — *J. cell. comp. physiol.*, 1962, 59, 45.

[62] Soberman (R.J.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 1949, 71, 172.

[63] Soberman (R.J.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 1950, 74, 789.

[64] Soberman (R.J.), Brodie (B.B.), Lévy (B.B.), Axelrod (J.), Hollander (V.) et Steele (J.M.). — *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 31.

[65] Steele (J.M.), Berger (E.Y.), Dunning (M.F.) et Brodie (B.D.). — Total body water in man. *Amer. J. Physiol.*, 1950, 162, 313.

[66] Stoll (G.), Edelman (I.) et Moore (F.). — 3e *Congrès Méd. Int. Evian 1951*, vol. II, Paris 1951.

[67] Swanson (E.W.) et Neathery (H.W.). — Body water estimations with identical dairy cattle using antipyrine. *J. Anim. Sci.*, 1956, 15, 1300-1301.

[68] Till (A.R.) et Downes (A.M.). — *Aust. J. agric. Res.*, 1962, 13, 2, 335.

[69] Uderkwu (F.A.O.), Kozoll (D.D.) et Meyer (K.A.). — *J. Nucl. Med.*, 1963, 4, 1, 60.

[70] Vaughan (B.E.) et Boling (E.A.). — *J. Lab. clin. Méd.*, 1961, 57, 159.

[71] Von Hevesy (G.) et Hofer (E.). — *Nature, Lond.*, 1934, 134, 879.

[72] Wellington (G.H.), Reid (J.T.), Bratzler-Miller (J.L.). — Use of antipyrine in nutritional and meats studies with cattle. *J. Animal Sci.*, 1956, 15, 76-86.

[73] Whiting (F.), Balch (C.C.) et Camblong (A.C.). — *Br. J. Nutr*. 1960, 14, 519.

Vu : le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

A. RICO

Vu : le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

R. FLORIO

Vu : le Président de la Thèse

DOUSTE-BLAZY

Vu : le Doyen
Pour le Doyen,

L'Assesseur : J. MONNIER

n° 298
Vu et Permis d'imprimer
Toulouse le 7 octobre 1969
Le Recteur
Président du Conseil de l'Université
Académie de Toulouse

C. CHALIN

IMP. J. PINÇON R. RACINE · AMBOISE, TÉL. 24

Dépôt légal : 2e trimestre 1970